Sur une nouvelle méthode d'étude du mouvement des microorganismes;

PAR M. FERNAND MOREAU.

Tous ceux qui ont étudié la flore ou la faune microscopique des eaux se sont complus à suivre dans leur course vagabonde les microorganismes mobiles qu'elles renferment : infusoires, flagellés, algues, zoospores, zoogamètes, etc. En général, ces organismes décrivent des trajectoires très complexes et leur vitesse paraît varier d'une manière désordonnée. Nous nous proposons de montrer ici qu'il est possible d'exprimer numériquement, par des procédés simples, certaines qualités de leurs mouvements.

MÉTHODE.

La méthode que nous avons employée rappelle celle que les physiciens connaissent sous le nom de méthode stroboscopique : cette dernière consiste à étudier le mouvement d'un mobile en ne tenant compte que des positions qu'il occupe à des intervalles de temps réguliers; par exemple, on photographiera une boule qui tombe et qu'on n'éclairera que tous les dixièmes de seconde; la mesure, sur le cliché, des distances qui séparent les positions successives de la boule à sa position initiale, permet de vérifier la loi de proportionnalité des espaces parcourus au carré des temps employés à les parcourir, beaucoup plus aisément qu'on le ferait en tenant compte à la fois de toutes les positions occupées par la boule pendant sa chute.

Nous ne considérerons sur la trajectoire décrite par un mobile microscopique que les points qu'il occupe à des instants également éloignés les uns des autres et nous substituerons, pour l'étude, à la trajectoire réelle suivie par le microorganisme une trajectoire plus simple, composée de segments rectilignes réunissant les points successifs que nous aurons seuls retenus : c'est la trajectoire que suivrait un mobile fictif se déplaçant suivant des lignes droites et venant toucher à intervalles réguliers le mobile réel. A la ligne courbe C que suit réellement le

mobile microscopique dont nous étudions le mouvement, nous substituerons la ligne brisée $a_0a_1a_2a_3...a_n$ qui réunit les points a_0, a_1, a_2, a_3,... a_n, de la ligne C, occupés respectivement par le mobile aux temps 0, 1, 2, 3,... n (fig. 1).

A chacun des segments a_0a_1, a_1a_2, a_2a_3,... nous donnons le nom de *déplacement pendant le temps* 1.

Les segments a_0a_2, a_2a_4,... seront les *déplacements pendant le temps* 2.

D'une manière générale a_0a_n sera le *déplacement pendant le temps n*.

Nous appellerons *déplacement moyen* pendant les temps 1, 2, 3,... n la moyenne arithmétique des longueurs d'un certain nombre de déplacements pendant les mêmes temps.

Les déplacements sont des vecteurs qu'on peut considérer au point de vue de leur grandeur, de leur direction et de leur sens. Ce sont ces vecteurs dont nous allons faire l'étude : ils se prêtent à des mesures plus aisément que la courbe C.

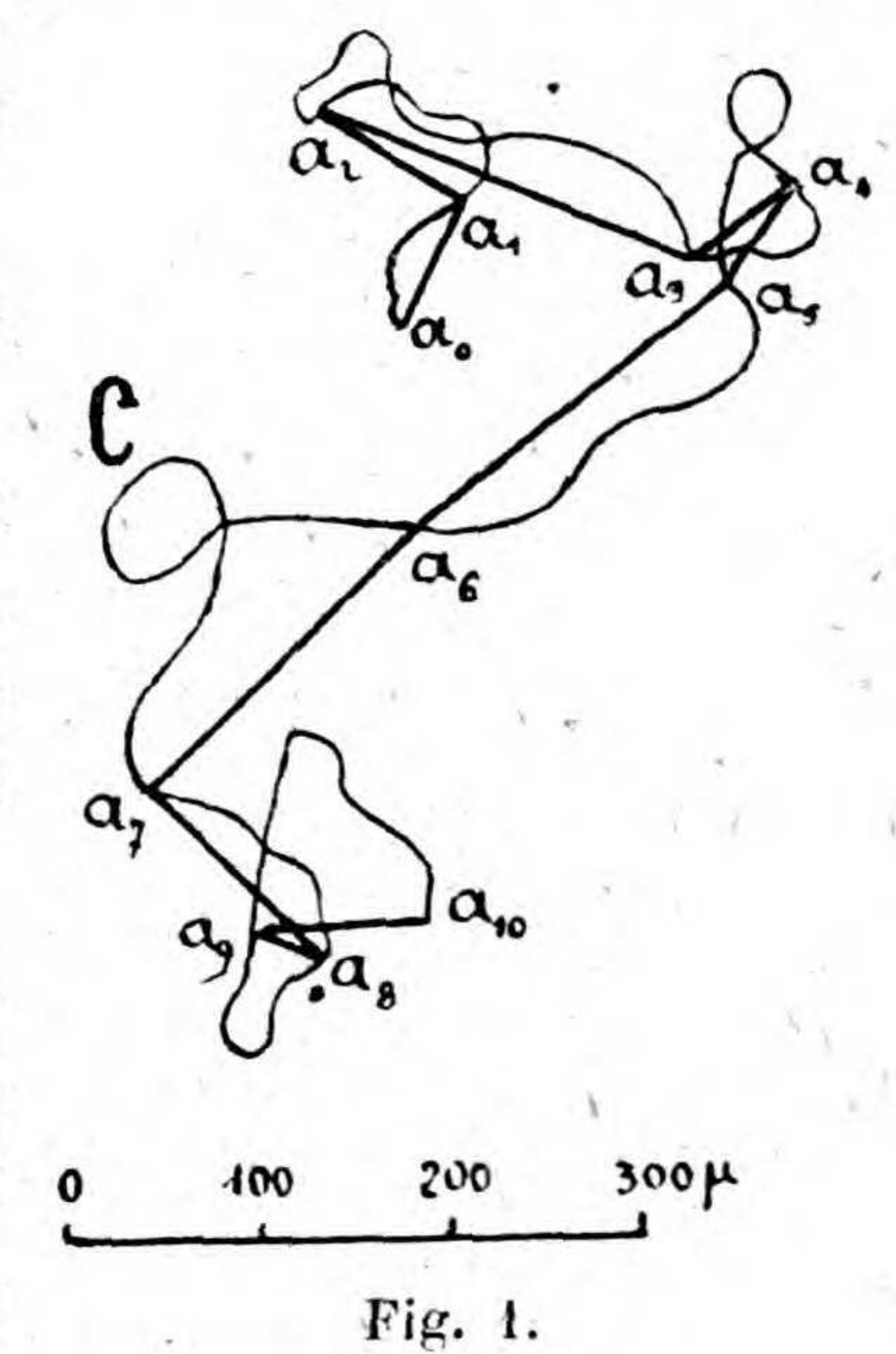


Fig. 1.

APPLICATION A UN CAS PARTICULIER.

Nous avons choisi comme sujet d'étude le mouvement d'un infusoire cilié, mais la même méthode est applicable à tous les organismes mobiles, animaux ou végétaux. Ceux que nous avons étudiés sont des organismes ovoïdes, de 50 μ de long sur 40 μ de large, donc facilement visibles au microscope avec un grossissement faible. Pour les observations qui vont suivre, et qui doivent décider de la valeur de la méthode, nous avons employé un dispositif qui permet aux conditions extérieures de n'intervenir que le moins possible pour modifier le mouvement.

Sur la platine, horizontale, du microscope on placera sur une lame porte-objet une goutte de l'eau qui renferme les microorganismes étudiés. Dans nos observations ceux-ci n'étaient pas en culture pure, mais les organismes qui les accompagnaient étaient beaucoup plus petits qu'eux et ne pouvaient donner

lieu à aucune confusion avec eux. La goutte d'eau doit être assez grosse pour ne pas être trop vite desséchée et pour permettre une observation prolongée, assez large pour qu'on puisse considérer que les organismes s'y meuvent dans un milieu non limité. On en étudiera seulement la partie centrale pour éviter les altérations que peut présenter le mouvement sur les bords. Elle devra ne renfermer qu'un petit nombre d'organismes de sorte qu'ils puissent circuler sans se gêner mutuellement et qu'on puisse suivre l'un d'eux sans confusion : le champ microscopique n'en doit pas renfermer plus de trois ou quatre à la fois. On ne recouvrira pas la préparation d'une lamelle pour que toutes ses parties soient également aérées. On placera sur la lame un petit manchon noir dans lequel pénétrera l'objectif et destiné à empêcher l'arrivée sur la préparation des rayons lumineux latéraux; la préparation ne reçoit guère que les rayons réfléchis par le miroir et qui ont traversé le condensateur : l'éclairement du champ du microscope est sensiblement uniforme dans toute son étendue. Nous n'avons pas à tenir compte de la pesanteur, car, dans les conditions que nous venons d'indiquer, nous n'observons que les mouvements horizontaux des microorganismes, plus exactement la projection de leurs mouvements sur un plan horizontal. Quant à la température, elle s'est maintenue, dans les observations que nous rapportons ci-dessous, aux environs de 23°,5. Pour mesurer le temps, on disposera à proximité du microscope un pendule battant la seconde; nous avons retenu

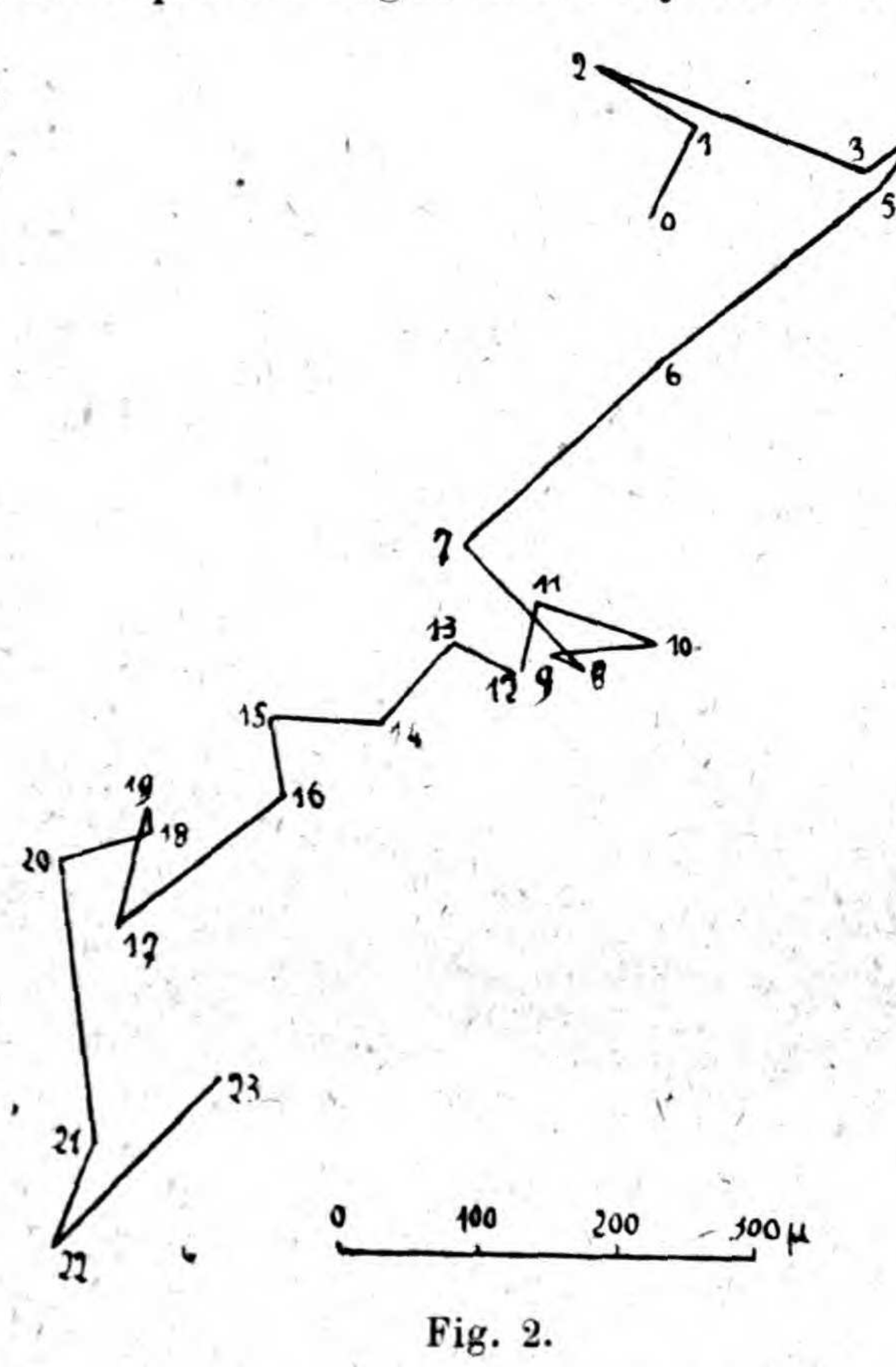


Fig. 2.

les positions occupées par les infusoires toutes les cinq secondes. Il est inutile de dessiner la trajectoire entière suivie par eux; il suffit de noter à la chambre claire sur une feuille de papier les points successivement occupés par les infusoires au début de chaque période de cinq secondes et de réunir par un trait les points successifs (fig. 2). Chaque segment de la ligne brisée ainsi obtenue est ce que nous avons appelé le déplacement pendant le temps 1 (correspondant, dans les observations qui vont suivre, à 5 secondes). Connaissant le grossissement du dessin on mesure aisément les déplacements pendant les temps 1, 2, 3...; ces mesures ont été faites à 10 μ près. Nous nous sommes efforcé de suivre un même organisme pendant aussi longtemps que possible, jusqu'à ce qu'il quitte le champ du microscope. Après avoir réuni une série de dessins représentant les déplacements d'un certain nombre d'organismes, nous avons pratiqué les mesures et étudié les déplacements, d'une part au point de vue de leur grandeur, d'autre part au point de vue de leur direction et de leur sens.

ETUDE DE LA GRANDEUR DES DÉPLACEMENTS.

Loi des déplacements. — Nous avons successivement comparé aux déplacements pendant le temps 1, les déplacements pendant les temps 2, 3.... Par exemple, nous avons considéré un certain nombre de trajets de deux segments chacun, tels que 0-1, 1-2; 2-3, 3-4; 4-5, 5-6,... (fig. 2). Pour chacun d'eux, nous avons fait le rapport de la longueur d_2 du déplacement pendant le temps 2 au déplacement moyen d_1 pendant le temps 1. A titre d'exemple nous reproduisons ci-après le tableau des valeurs de d_1 et d_2 et de leur rapport, relatif aux trajets de deux segments, au nombre de 11, qui constituent le trajet de la figure 2.

La valeur moyenne de ces 11 rapports $\frac{d_2}{d_1}$ est de 1,44. Nous avons opéré de la même façon pour 130 trajets de deux segments, nous avons obtenu pour valeur moyenne du rapport $\frac{d_2}{d_1}$ le nombre 1,47. Ce nombre est assez voisin de $\sqrt{2}$ ou 1,41 pour que nous soupçonnions que les déplacements sont proportionnels, en moyenne, à la racine carrée du temps correspondant.

INFUSOIRE N° 16	NUMÉRO DES TRAJETS	DÉPLACEMENTS PENDANT LE TEMPS 1	d_1	d_2	$\frac{d_2}{d_1}$
	1	80 90	85	120	1,41
	2	230 70	150	260	1,73
	3	60 210	135	270	2,00
	4	200 130	165	230	1,39
	5	20 80	90	50	0,55
	6	100 50	75	100	1,33
	7	60 80	70	110	1,57
	8	90 60	75	100	1,33
	9	150 90	120	100	0,83
	10	10 80	45	80	1,78
	11	210 80	145	300	2,07

Nous avons, de la même façon que précédemment, calculé les valeurs des rapports $\frac{d_3}{d_1}$, $\frac{d_4}{d_1}$, etc., de la grandeur des déplacements pendant les temps 3, 4, etc., à la grandeur du déplacement pendant le temps 1. La moyenne des résultats obtenus est indiquée dans le tableau suivant, où nous avons noté, en regard de chaque rapport, la valeur théorique qui lui correspond, en supposant vraie la loi de proportionnalité des déplacements à la racine carrée du temps.

Les valeurs obtenues sont assez voisines des valeurs théoriques pour assurer l'exactitude de la loi suivante :

Pour un nombre de déplacements suffisamment grand, *le déplacement moyen est proportionnel à la racine carrée du temps correspondant.* Il devient double quand le temps devient quadruple, il devient triple quand le temps devient 9 fois plus grand, quadruple pour un temps 16 fois plus grand.

RAPPORTS	VALEUR MOYENNE TROUVÉE	VALEUR THÉORIQUE	NOMBRE DE RAPPORTS CALCULÉS POUR ÉTABLIR LA MOYENNE
$\frac{d_2}{d_1}$	1,47...	$\sqrt{2}=1,41...$	130
$\frac{d_3}{d_1}$	1,74...	$\sqrt{3}=1,73...$	87
$\frac{d_4}{d_1}$	2,01...	$\sqrt{4}=4$	69
$\frac{d_9}{d_1}$	3,08...	$\sqrt{9}=3$	28
$\frac{d_{16}}{d_1}$	4,13...	$\sqrt{16}=4$	10

Constante de déplacement. — La loi précédente s'exprime par la relation $D=k\sqrt{t}$ où D représente le déplacement moyen pendant le temps t et où k est un coefficient de proportionnalité. Si dans cette formule on fait $t=1$, elle devient $D=k$; k représente le déplacement moyen pendant l'unité de temps.

Nous avons calculé le déplacement moyen pendant 5 secondes; sa valeur, d'après 276 observations, est de 165,1 μ. Si la longueur est exprimée en μ et le temps en secondes,

$$k=\frac{165,1}{\sqrt{5}}=73,8.$$

Ce nombre k est ce que nous appelons la *constante de déplacement*. Elle varie avec l'organisme mobile considéré et avec les conditions du milieu.

t	D	$k=\frac{D}{\sqrt{t}}$	NOMBRE D'OBSERVATIONS
5 secondes.	$165^{\mu},1$	73,8	276
10 —	246 ,3	77,9	136
15 —	285 ,4	74,5	87
20 —	316 ,6	70,8	69
45 —	450 ,0	67,1	28

Il nous a été facile de vérifier la constance du coefficient k pour un certain nombre de valeurs de t. Le tableau ci-dessus donne les résultats de cette vérification.

En nombres ronds, nous pouvons donc admettre que la valeur de k pour l'organisme considéré, et dans les conditions où nous nous sommes placé, est de 75 (la longueur étant exprimée en μ, le temps en secondes).

Répartition des organismes au bout d'un temps donné. — La courbe qui représente la fonction $D = k\sqrt{t}$ montre comment croît en fonction du temps le déplacement moyen de l'organisme étudié (fig. 3).

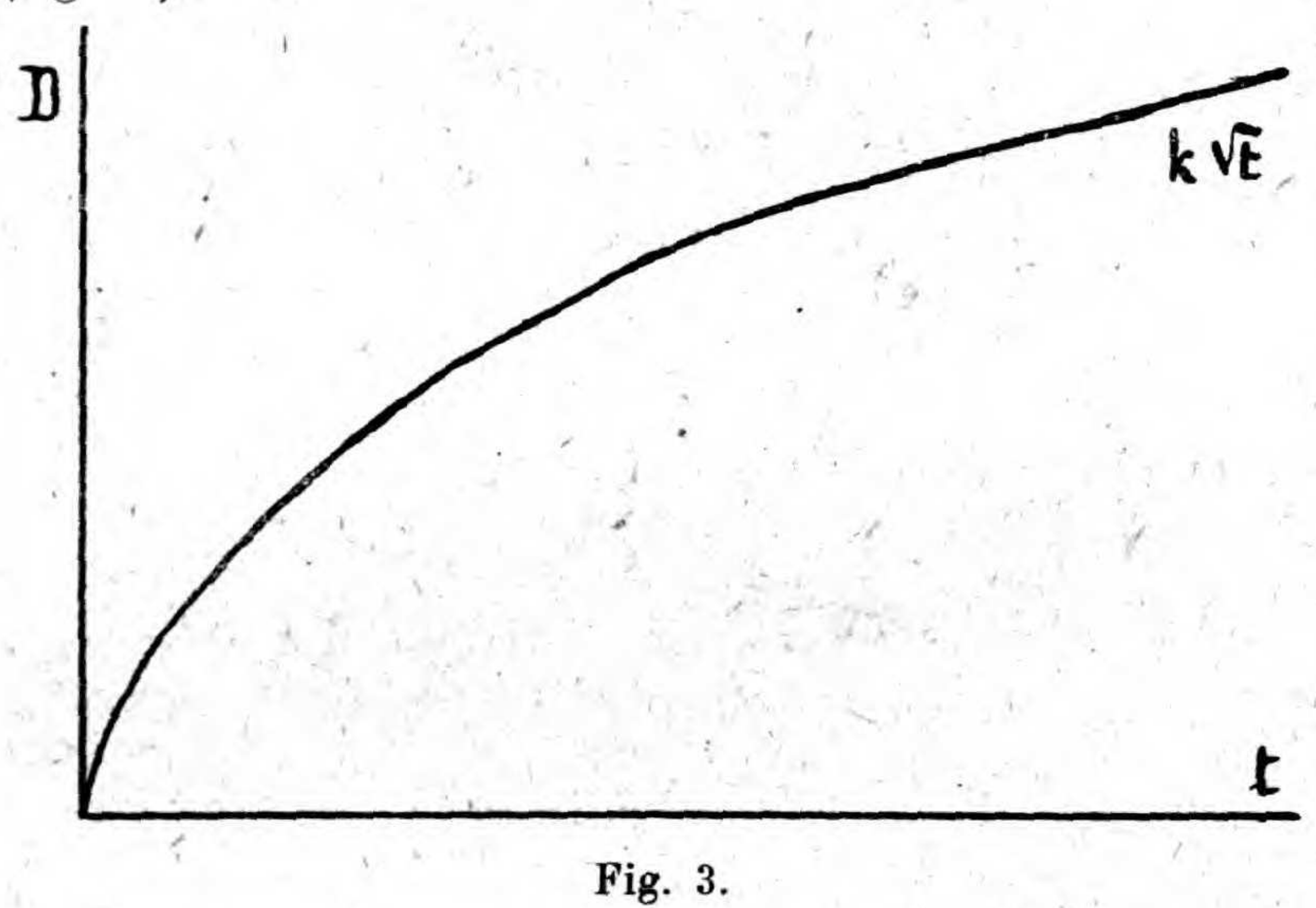


Fig. 3.

Elle ne renseigne que d'une manière très imparfaite sur la position réelle d'un microorganisme au bout d'un temps donné. Pour avoir une connaissance plus précise de cette position, nous allons dresser la courbe de variation des déplacements pour un certain nombre de valeurs de t.

0 A 100 μ	100 A 200 μ	200 A 300 μ	300 A 400 μ	400 A 500 μ	PLUS DE 500 μ
112	90	51	12	10	3
40	32	18	5	4	1

Nous avons dénombré parmi 278 valeurs du déplacement pendant le temps 1 (ou 5 secondes) celles comprises entre 0 et 100 μ, entre 100 et 200 μ, etc. Elles se répartissent conformément au tableau ci-dessus, sur la dernière ligne duquel nous

avons supposé ramené à 100 le nombre des déplacements mesurés.

Ce tableau et la courbe de la figure 4 qui le traduit nous fournissent sur la position des organismes, après une course de 5 secondes, des renseignements de l'ordre des suivants :

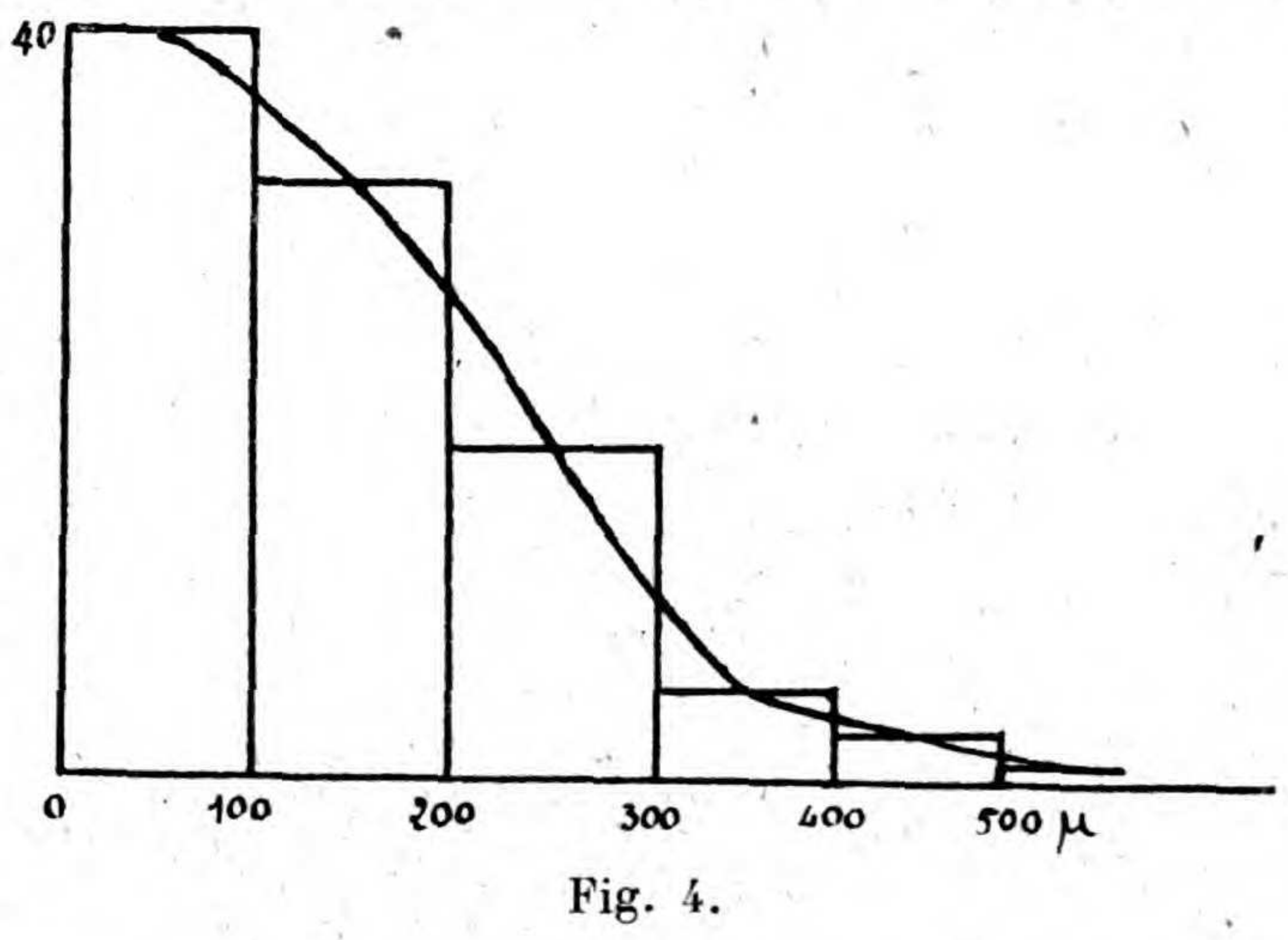


Fig. 4.

Un des organismes étudiés aura 40 chances sur 100 de se trouver au bout de la 5ᵉ seconde de son parcours à une distance de moins de 100 μ de son point de départ, 32 chances sur 100 de se trouver à la même époque entre deux circonférences concentriques ayant pour centre le point de départ et pour rayons 100 et 200 μ, etc.

	0 A 100 μ	100 A 200 μ	200 A 300 μ	300 A 400 μ	400 A 500 μ	500 A 600 μ	600 A 700 μ	700 A 800 μ	800 A 900 μ	900 A 1000 μ	PLUS DE 1000 μ	NOMBRE DE MESURES
$t = 5^{sec.}$	**40**	32	18	5	4		1					278
$t = 10$	18	**32**	23	13	7	2	2	1,5		1,4		136
$t = 15$	17	**31**	15	16	9	7			2		2	87
$t = 20$	14	**28**	15	14	12	9	3	3	3			69
$t = 45$	14		**50**		11		11		11		4	33

D'autre part, sur *cent* organismes partis ensemble du même point, 40 environ se trouveront au bout de 5 secondes à moins de 100 μ du point de départ; 32 en seront éloignés de 100 à 200 μ, etc. La courbe de la figure 4 est donc la courbe de répar-

tition au bout de 5 secondes d'un grand nombre d'infusoires partis ensemble du même point.

Nous avons dressé de la même façon les tableaux et construit

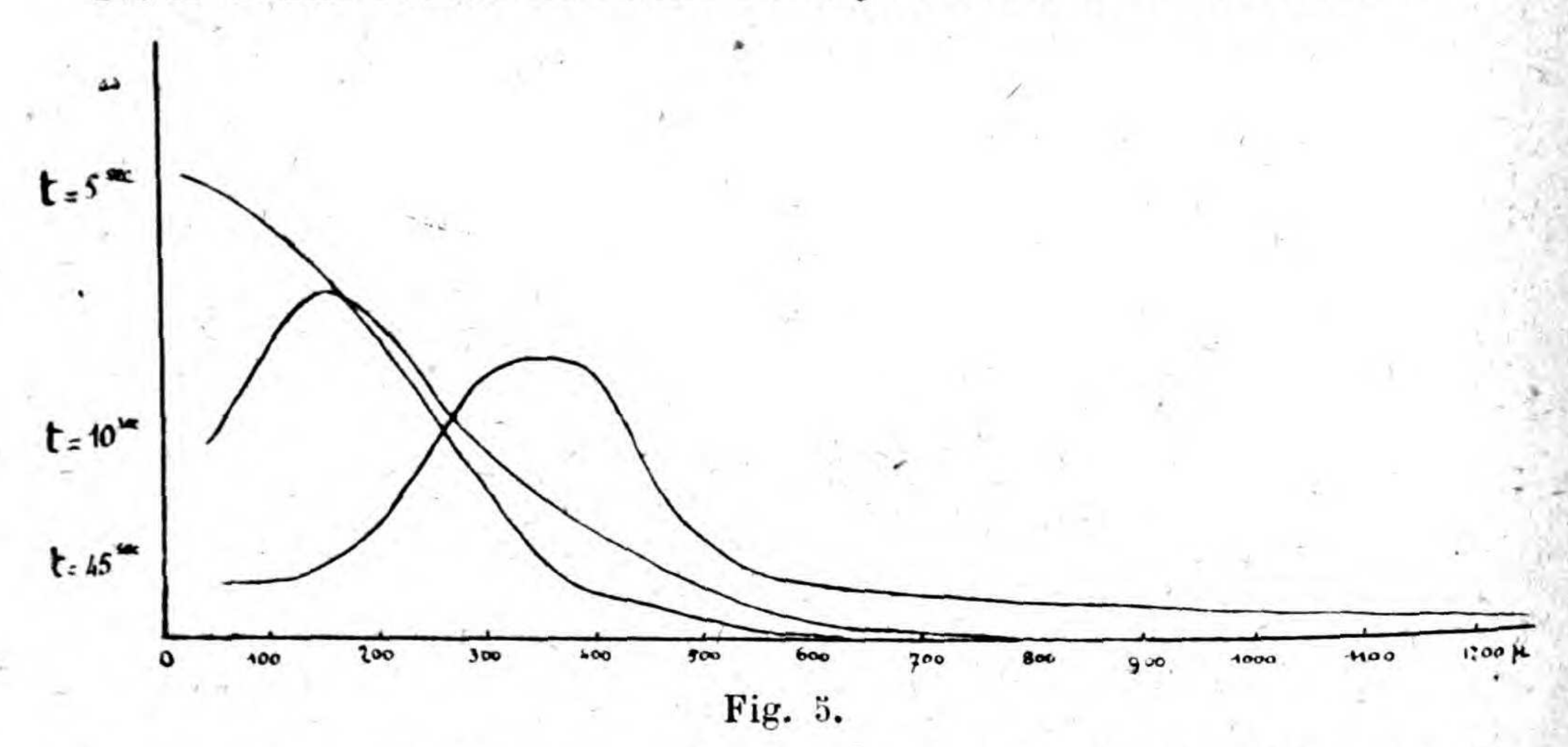


Fig. 5.

les courbes relatifs aux déplacements de durée 10, 15, 20, 45 secondes. Dans ces tableaux, reproduits dans la page précédente, nous avons supposé rapporté à 100 le nombre des déplacements mesurés.

Nous avons représenté (fig. 5) trois des courbes qui leur

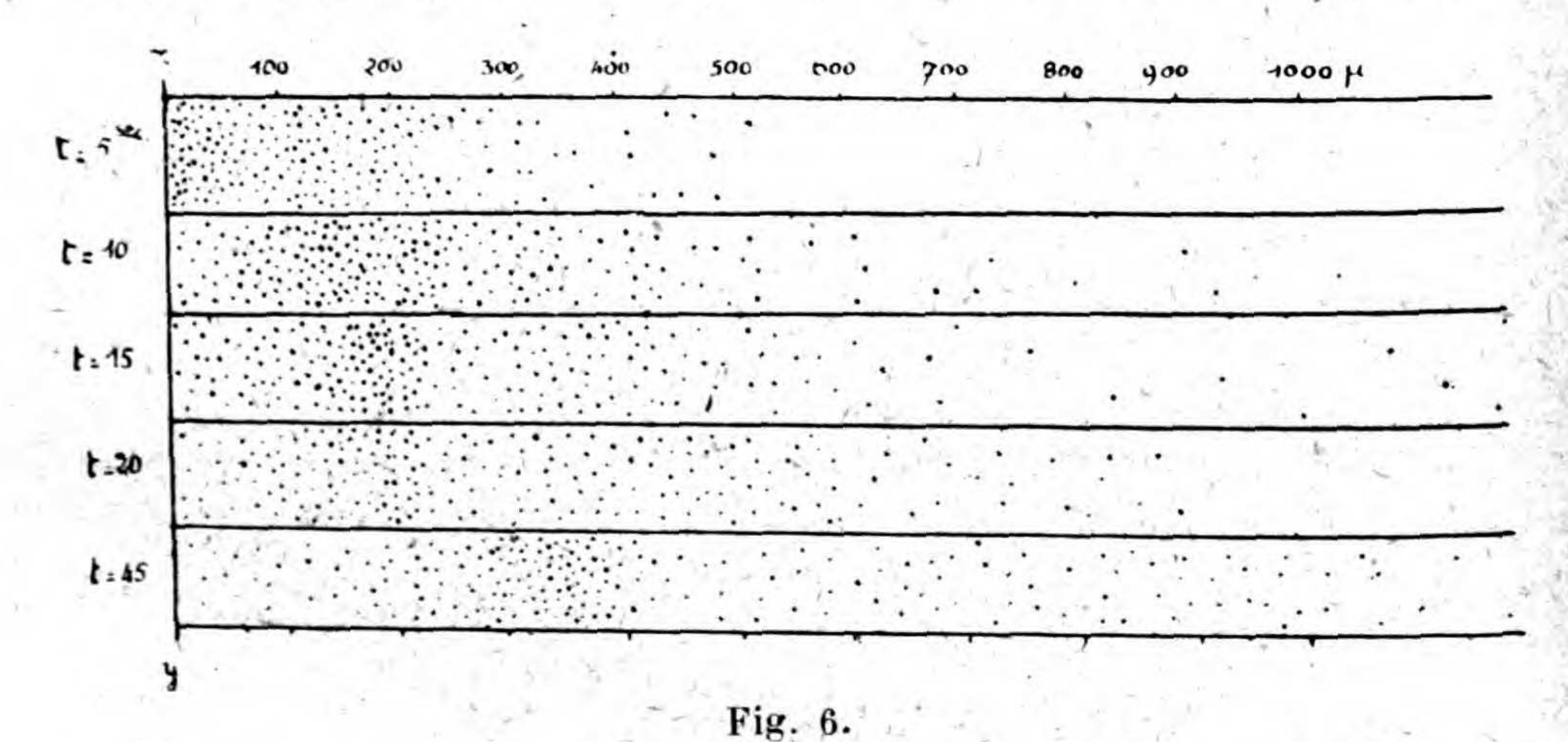


Fig. 6.

correspondent; nous les avons rapportées aux mêmes axes pour en faciliter la comparaison. Lorsque le temps devient plus grand, ces courbes s'étalent et tendent vers un régime de dispersion régulière.

La façon dont se répartissent un grand nombre de nos microorganismes, à partir d'un point de départ commun, est marqué d'une façon plus frappante dans le graphique ci-dessus con-

struit à l'aide des tableaux précédents : chaque bande horizontale représente, au moyen de points d'autant plus nombreux dans chaque région que les infusoires y sont eux-mêmes plus nombreux, la répartition au bout de 5, 10, 20, 45 secondes d'un

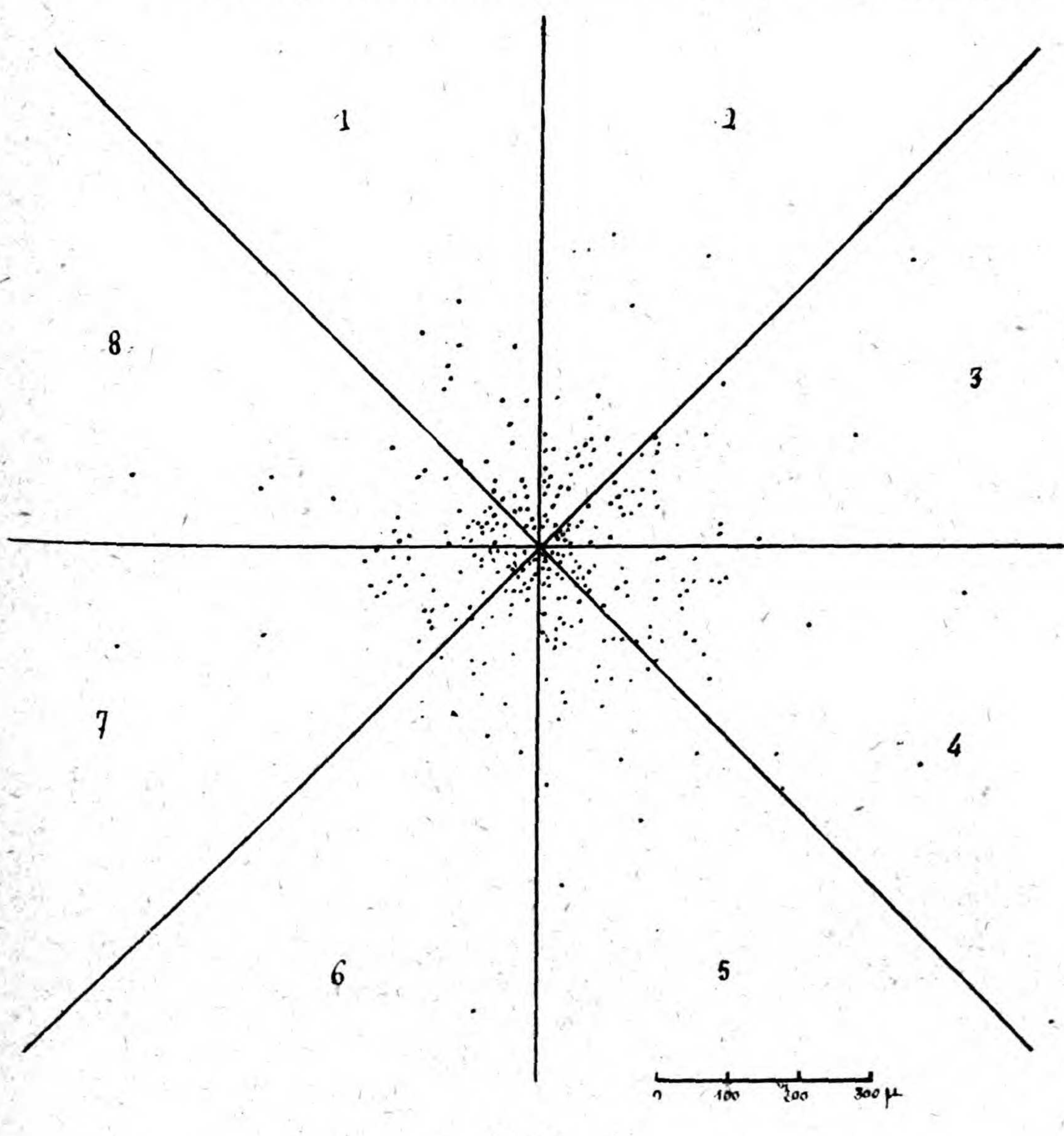


Fig. 7.

même nombre d'organismes supposés au temps 0 partis de la ligne xy (fig. 6).

•

ÉTUDE DE LA DIRECTION ET DU SENS DES DÉPLACEMENTS.

Pour étudier la direction et le sens des déplacements, nous avons employé l'artifice suivant : nous avons considéré dans

leur direction et leur sens des vecteurs équipollents aux déplacements et ayant une origine commune; cela revient à transporter chaque déplacement parallèlement à lui-même, de sorte que son origine vienne coïncider avec l'origine commune choisie : ni sa direction ni son sens ne changent au cours de cette opération; cela revient encore à supposer que les microorganismes sont ramenés au même point de départ à l'origine de chaque nouvelle période de temps.

Fig. 8.

La figure 7[1] représente le résultat obtenu avec les vecteurs équipollents à 285 déplacements pendant 5 secondes. Nous n'y avons représenté, pour simplifier la figure, que l'extrémité des vecteurs. On se rend compte, au seul examen de la figure, que ces points sont à peu près également répartis autour de l'origine.

Il est possible d'obtenir une expression numérique de la répartition des vecteurs autour de l'origine. Il suffit de partager la feuille de papier autour de ce point en angles égaux et de comparer entre eux le nombre des points qu'ils renferment.

Ainsi, en partageant en 8 secteurs égaux le plan de la figure autour de l'origine comme la figure 7 l'indique, et en supposant ramené à 100 le nombre des observations qui s'est élevé à 285 on obtient le pourcentage indiqué dans la figure 8, orientée comme la figure 7. Les nombres obtenus sont assez proches de la moyenne $\frac{100}{8} = 12{,}5$ et les écarts qu'ils présentent avec elle ne se groupent pas d'une manière évidente. Nous pouvons

1. L'étude sur cette figure de la répartition des extrémités des vecteurs, entre des circonférences ayant pour centre l'origine et pour rayons 0, 100, 200, 300 μ, etc., conduirait au tableau de la page 72.

conclure de cet examen qu'*aucune direction de déplacement ni de sens n'est privilégiée.*

Résumé de l'étude des déplacements.

Le résultat le plus important de l'étude des déplacements au point de vue de leur grandeur est l'établissement de la loi suivante : Pour un nombre de déplacements suffisamment élevé, le déplacement moyen est proportionnel à la racine carrée du temps correspondant.

Cette loi s'exprime analytiquement par la relation $D = k \sqrt{t}$ où k est un coefficient numérique égal, pour l'espèce étudiée et dans les conditions où nous nous sommes placé, à 75, D étant exprimé en μ et t en secondes.

L'étude des variations de la grandeur des déplacements à un certain nombre d'époques successives nous a montré comment on peut savoir la probabilité pour qu'un organisme occupe au bout d'un temps donné une position donnée et, pour un grand nombre d'organismes partis ensemble d'un même point, leur répartition au bout d'un temps donné.

Quant à l'étude des directions des déplacements, elle nous a montré qu'aucune d'elles n'est privilégiée; il en est de même de leur sens.

Signification de ces résultats.

Ces résultats pouvaient être prévus. En effet nous nous sommes efforcé de réduire ou de supprimer les différents facteurs qui peuvent exercer une influence sur le mouvement des organismes en expérience. Dans ces conditions, le mouvement observé ne pouvait être qu'irrégulier.

Or, ce sont précisément les lois du mouvement parfaitement irrégulier que nous avons obtenues; nos microorganismes se déplacent conformément à la théorie que Einstein a donnée d'un tel mouvement dans son étude théorique du mouvement brownien, et que Perrin[1] a vérifiée expérimentalement par des procédés dont nous nous sommes inspiré dans l'étude qui précède

1. Perrin (J.). Les atomes, Paris, Alcan, 1913.

et qu'il a appliqués à l'étude des particules animées du mouvement brownien.

Par suite, l'étude que nous venons de faire du mouvement des microorganismes, dans les conditions où nous l'avons faite, peut être considérée comme une nouvelle vérification expérimentale de la théorie de Einstein. Nos microorganismes mobiles se déplacent comme le font les granules agités par le mouvement brownien ou, encore, d'après la représentation qu'on se fait aujourd'hui des gaz et des solutions, comme les molécules d'une masse gazeuse ou les ions répandus dans une solution. Leur mouvement est l'image de celui des molécules et des ions et ils doivent permettre, dans certaines limites, une vérification des conséquences de la théorie des gaz et de son extension aux solutions.

Valeur de la méthode. Recherches a faire.

Le fait que nous avons retrouvé, par la méthode que nous venons d'exposer, les lois du mouvement parfaitement irrégulier dans un cas où elles doivent effectivement être vérifiées, nous est une garantie de la valeur de la méthode[1] et doit engager les biologistes à en étendre l'application.

Les recherches peuvent être poursuivies dans divers sens.

On peut, sans changer les conditions où nous nous sommes placé, substituer à l'espèce qui nous a servi dans nos recherches une espèce différente, animale ou végétale. Les lois du déplacement devront rester les mêmes, essentiellement; ce qui changera, c'est la valeur de la constante de déplacement k.

1. Il convient de remarquer que pour des quantités très petites de t, assez petites pour qu'on puisse considérer la trajectoire décrite comme rectiligne et le mouvement comme uniforme, la formule $D = k\sqrt{t}$ ne s'appliquerait pas; dans les conditions ordinaires de l'observation, t est toujours supérieur à la valeur au-dessous de laquelle les lois trouvées tombent en défaut; si on réussit à suivre pendant longtemps un même organisme dans le champ du microscope, on constate que la loi $D = k\sqrt{t}$, satisfaite pour les valeurs faibles de t, ne l'est plus pour les valeurs élevées ; si on cherche à vérifier la constance de k pour ces valeurs élevées, on trouve pour k un nombre trop faible. C'est que le microorganisme envisagé doit être considéré comme un mobile qui se déplace dans un espace *limité*, qui est le champ du microscope. La loi $D = k\sqrt{t}$ qui veut que D s'accroisse indéfiniment avec t exige pour être satisfaite que le mobile auquel on l'applique se déplace dans un espace illimité.

On peut encore pour un organisme donne chercher comment varient, dans un milieu donné, ses déplacements aux divers âges; on cherchera, par exemple, comment se comporte un infusoire dans l'état de sénescence, une zoospore d'Algue au moment où elle va se fixer, un zoogamète lorsque ses réserves sont épuisées, etc.

On peut enfin, pour un même organisme mobile, chercher comment varient ses déplacements, dans leur grandeur, leur direction ou leur sens, avec les conditions du milieu, en modifiant, par exemple, la viscosité, la température, la nature, l'intensité, la direction des radiations lumineuses; on cherchera comment se manifeste l'action des anesthésiques, comment interviennent la pesanteur, les divers tactismes, etc.

On le voit, un vaste champ de recherches est ouvert; elles devront conduire à des résultats précis, exprimables par des nombres, sur le mouvement des microorganismes.

Il est donné lecture de la communication suivante :

Aperçu sur la flore du Maroc occidental; d'après des récoltes et observations faites dans cette région par M. Perrier de la Bâthie, en 1917-1918;

PAR M. ALFRED REYNIER

I

Pour éventuelle culture d'agrément et introduction en herbier, je reçus, naguère, de M. Henri Perrier de la Bâthie détaché, depuis mars 1917 jusqu'à mars 1918, aux Travaux Publics auprès de la Mission permanente de recherches scientifiques marocaines de M. le professeur Gentil, deux paquets de fruits, semences, bulbes, auxquels se joignit ensuite un lot d'environ 150 plantes desséchées au complet (racine, feuilles, fleurs). Le